

# Estudio bibliográfico sobre la posible relación entre la regulación de la expresión de la ADN polimerasa theta y la desregulación metabólica en células tumorales.

Carolina Guerrero Amelín<sup>a</sup>, Pedro Antonio Mateos Gómez<sup>b</sup>

Unidad de Bioquímica y Biología Molecular, Departamento de Biología de Sistemas, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad de Alcalá, 28871 Alcalá de Henares, Madrid, España. 2.

a. carolina.guerreroa@edu.uah.es b. pedroantonio.mateos@uah.es

**Palabras clave:** ADN polimerasa theta; cáncer; efecto Warburg; disfunción mitocondrial; PGC1 alpha

## Resumen

El cáncer es una patología que presenta una gran relevancia en nuestros días. Se caracteriza por que las células tumorales presentan un metabolismo diferente al de las células normales, ya que llevan a cabo una glucólisis anaeróbica, incluso en condiciones de normoxia, llamada "efecto Warburg" o disfunción mitocondrial ya que no tiene lugar el ciclo de Krebs ni se emplea la cadena transportadora acoplada a la fosforilación oxidativa en la mitocondria. Sorprendentemente, este metabolismo característico de las células tumorales no es llevado a cabo por las células normales exceptuando las células del testículo, tejido placentario y linfocitos. Además, se ha observado que las células tumorales presentan un aumento en la expresión de Pol  $\theta$ , una ADN polimerasa que actúa en la reparación alternativa de extremos no homólogos o alt-NHEJ, y que es considerada como diana terapéutica. La característica de esta reparación es que a pesar de que repara las roturas de doble cadena para evitar la muerte celular, presenta una tasa de mutación muy elevada, lo que puede otorgar a las células tumorales nuevas características para la supervivencia, proliferación y migración. En el efecto Warburg se observa una reordenación del ciclo glucolítico potenciado por factores como HIF-1 o c-MYC, favoreciendo la obtención de lactato, 2 ATP y fuente de carbono para obtener intermediarios metabólicos utilizados para crecer y multiplicarse. Como consecuencia de ello, se elevan los niveles de ROS que son contrarrestados por la activación de PGC-1  $\alpha$  y de las enzimas antioxidantes. Los ROS provocan daño en el ADN el cual tiene que ser reparado. En este estudio se plantea la idea de que el aumento en la expresión de Pol  $\theta$  y por tanto la reparación por alt-NHEJ, podría estar inducida por el efecto Warburg, la regulación del mismo o por las consecuencias de éste. La misma relación también podría observarse en las células normales que tienen elevada la expresión de Pol  $\theta$ .

**Cita:** Guerrero Amelín, Carolina; Mateos Gómez, Pedro Antonio (2020) Estudio bibliográfico sobre la posible relación entre la regulación de la expresión de la ADN polimerasa theta y la desregulación metabólica en células tumorales. *dianas* 9 (2): e202009fa09. ISSN 1886-8746 (electronic) [journal.dianas.e202009fa09](http://www3.uah.es/dianas?e202009fa09) <http://www3.uah.es/dianas?e202009fa09>. URI <http://hdl.handle.net/10017/15181>

**Copyright:** © Guerrero-Amelín C, Mateos-Gómez PA. Algunos derechos reservados. Este es un artículo open-access distribuido bajo los términos de una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

## Introducción y estado actual del tema

El objetivo del siguiente estudio teórico es analizar la posible relación entre los cambios metabólicos que tienen lugar en las células tumorales, los cuales implican la disfunción de la mitocondria o efecto Warburg, y la expresión de la ADN polimerasa theta o Pol  $\theta$ , una enzima que participa en la reparación de las roturas de doble cadena del ADN (DSB: double strand breaks).

El ADN de las células sufre daño constantemente y requiere su reparación para mantener la integridad de la secuencia de nucleótidos así como su estructura y organización. Para mantener dicha integridad, las células poseen distintos mecanismos de reparación del ADN para los diferentes tipos de daño que se pueden producir, modificaciones en los nucleótidos, roturas de cadena sencilla y de la doble cadena, siendo estos últimos los más peligrosos y difíciles de reparar [1].

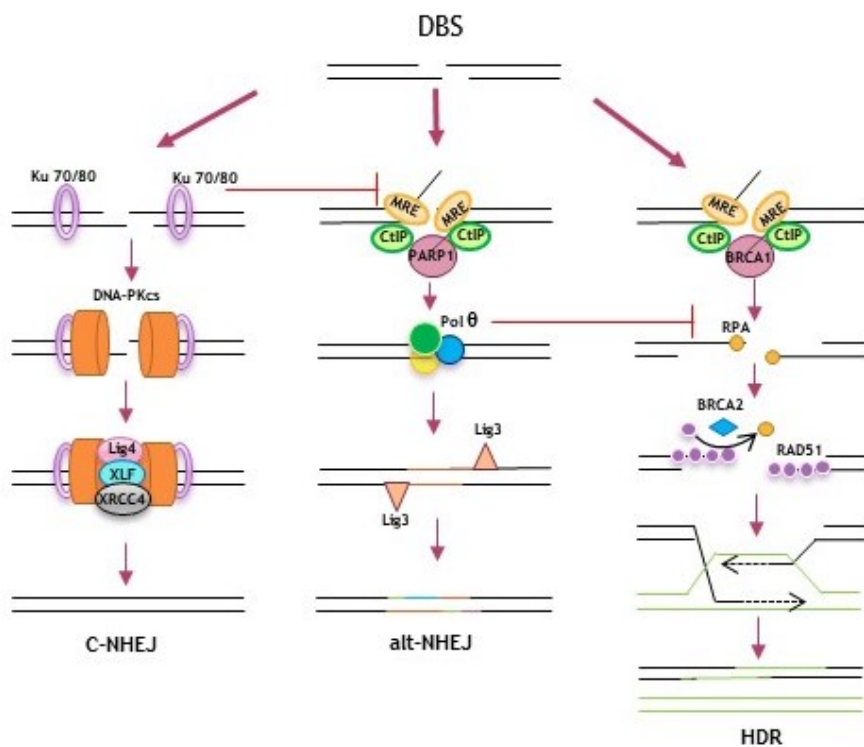
Las células tumorales presentan una mayor predisposición a sufrir las consecuencias del daño en el ADN por diversos factores, el más importante es una mayor dificultad para hacerle frente porque con mucha frecuencia presentan mecanismos de reparación del ADN deficientes, pero también por el aumento en la tasa de proliferación o el daño causado por agentes citotóxicos en las terapias oncológicas [2].

## Reparación del ADN

La reparación de las roturas de doble cadena en el ADN (DSB) es fundamental para la supervivencia de la célula y para la estabilidad del material genético [3]. Existen 3 vías de reparación para los DSB: recombinación dirigida por homología (HDR), unión de extremos no homólogos "clásica" (classical non-homologous end-joining, c-NHEJ), y unión de extremos no homólogos alternativa (alternative non-

homologous end-joining, alt-NHEJ) [4]. Generalmente, las células utilizan la HDR y la c-NHEJ para reparar los DSB, pero en algunos contextos, como puede ser el deterioro de esas vías de reparación, las células utilizan la alt-NHEJ para poder sobrevivir, lo que puede contribuir al desarrollo tumoral y a la reestructuración del genoma [3, 5, 6].

La reparación de una rotura de doble cadena del ADN puede requerir resección para obtener extremos de ADN de cadena sencilla o bien no requerirlo, esto depende de la fase del ciclo celular en la que se encuentre y finalmente, determina la vía de reparación empleada [7]. Las vías de reparación que requieren resección son la HDR y la alt-NHEJ, mientras que la c-NHEJ no lo precisa (**figura 1**). La reparación por HDR tiene lugar durante las fases S y G2 del ciclo celular cuando hay disponibilidad de la cromátida hermana que es usada para reparar el DSB. Para llevar a cabo la recombinación homóloga, es necesario que la proteína BRCA1 (proteína de susceptibilidad a cáncer de mama 1) induzca la resección del ADN, junto con MRE (proteína reparadora de la rotura de doble cadena) y CtIP para que RPA (proteína de replicación A) se una al ADN de cadena sencilla. Posteriormente, BRCA2 (proteína de susceptibilidad a cáncer de mama 2) sustituye a RPA por RAD51, una recombinasa que inicia la búsqueda de regiones homólogas en el ADN, para posteriormente reparar la rotura en el ADN manteniéndose la secuencia inicial al ser copiada, procediendo como ocurre en la replicación del ADN (**figura 1**). La vía c-NHEJ se activa durante la fase G1 del ciclo celular y es dependiente de Ku. El inicio del proceso sucede cuando se une el dímero Ku70/80 a los extremos del ADN. La presencia del complejo Ku inhibe la resección del ADN llevada a cabo por diferentes proteínas, por lo que la rotura no puede repararse por HDR ni por alt-NHEJ. Gracias a la unión del dímero Ku70/80, se une la subunidad catalítica de la DNA-PKcs (proteína quinasa dependiente de ADN). Para que tenga lugar el alineamiento del ADN se requiere el complejo Artemis y el complejo de la ADN ligasa IV/XLF/XRCC4 que vuelve a unir los extremos (**figura 1**), aunque a veces se introducen pequeñas deleciones en la secuencia [5-7].



**Figura 1.-** Mecanismos de reparación de roturas de doble cadena de ADN.

Sin embargo, en los últimos años se ha profundizado en el estudio de la alt-NHEJ [8, 9], aunque todavía no se conocen todas las proteínas implicadas y si todos los eventos de alt-NHEJ dependen de Pol  $\theta$ . La reparación es llevada a cabo mediante el uso de micro-homologías (pequeñas secuencias homólogas a ambos lados de la rotura) lo que provoca que la secuencia reparada presente deleciones, pero también frecuentes inserciones. Tiene lugar durante las fases S y G2 del ciclo celular al igual que la HDR, porque también requiere resección de los extremos del DSB. En este mecanismo la ADN polimerasa  $\theta$  desempeña un papel muy importante ya que promueve la hibridación de los extremos de ADN en las micro-homologías, puede extender la hebra de ADN de cadena sencilla añadiendo segmentos de ADN extra que generan dichas micro-homologías si no existieran, lo que generará una inserción de secuencia en la región reparada, y rellena los huecos que quedan en la secuencia después de la hibridación. Posteriormente, la ligasa III sella la unión de ambas cadenas reparándose así el DSB (**figura 1**) [3, 10, 11].

## ADN polimerasa theta (Pol $\theta$ )

Las ADN polimerasas son las enzimas que replican el ADN, pero algunas de ellas también participan en la reparación del daño producido en el ADN, y en ambos procesos lo hacen con mayor o menor fidelidad en función el tipo de polimerasa. La ADN polimerasa  $\theta$  es una de las enzimas menos conocida puesto que ha sido poco estudiada en comparación con el resto de las polimerasas, ya que se descubrió y se estudió su mecanismo posteriormente [6, 10, 12].

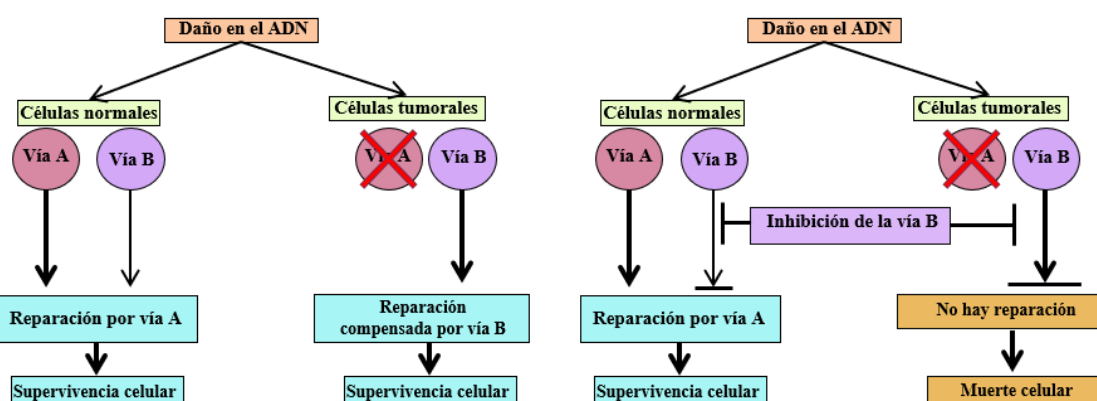
Pol  $\theta$  es una enzima de baja fidelidad que está codificada por el gen *POLQ* en células de mamíferos. Las ADN polimerasas se clasifican en familias en función de la estructura primaria de las subunidades catalíticas, perteneciendo la Pol  $\theta$  a la familia A. Esta polimerasa juega un papel importante en la reparación mediante unión de extremos no homólogos alternativa (alt-NHEJ), también conocida como unión de extremos mediada por micro-homologías (MMEJ) o unión de extremos mediada por theta (TMEJ) [6, 10, 13].

Pol  $\theta$  está constituida por 3 dominios (**figura 2**): el N-terminal o dominio de tipo helicasa (el dominio más conservado y con actividad ATPasa dependiente de ADN), un dominio central y el dominio C-terminal o dominio de ADN polimerasa, dentro del cual se encuentra un dominio de exonucleasa no funcional, y 3 inserciones de secuencia que no están presentes en ninguna otra polimerasa [6].



**Figura 2.-** Representación esquemática de Pol  $\theta$ .

La baja fidelidad de Pol  $\theta$  aumenta la tasa de mutación, lo que conlleva a la aparición dentro de un tumor de células genéticamente diferentes, lo que puede otorgarles capacidad para sobrevivir, progresar, diseminarse e incluso generar resistencia a un tratamiento oncológico. En células normales no se expresa o si lo hace, presenta unos niveles de expresión muy bajos [12]. Sin embargo, en la mayoría de los tumores en los que se ha estudiado, se ha observado que los niveles de Pol  $\theta$  están sobre expresados, incluido el cáncer de estómago, de pulmón, de colon, de mama o de ovario, (siendo más elevado en el cáncer de mama y ovario con deficiencia en la reparación por HDR [14]), correlacionándose con un peor pronóstico clínico del cáncer y una disminución de la respuesta a los tratamientos [6, 12, 14-16]. Además, se ha demostrado que esta polimerasa es esencial para la supervivencia de células tumorales a través del concepto de letalidad sintética (**figura 3**). Aquellos tumores deficientes en HDR, normalmente asociados a mutaciones en genes como son los que codifican para BRCA 1 y 2, dependen de Pol  $\theta$  para la reparación de los DSB. La inhibición de esta polimerasa en estas células hace que no se reparen los DSB y se acumulen aberraciones cromosómicas letales para la célula [7]. Pero la deficiencia de Pol  $\theta$  también afecta aunque en menor medida, a la proliferación de células que no presentan dichas deficiencias en la vía HDR [17].



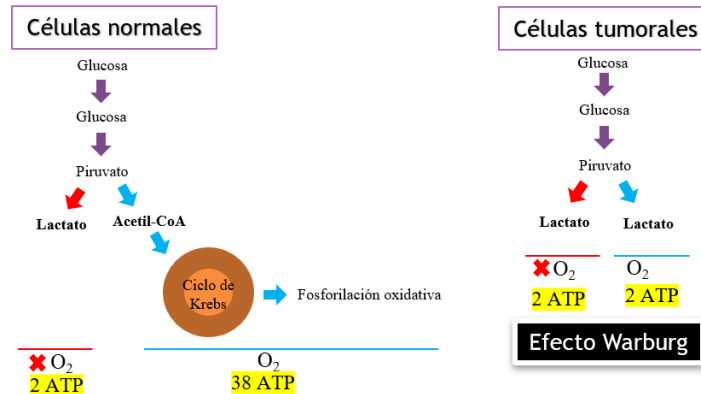
**Figura 3.-** Esquema de la letalidad sintética en células tumorales.

Por tanto, la ADN polimerasa  $\theta$  está adquiriendo gran importancia en los últimos años como diana terapéutica frente al cáncer [8], pero también por la posibilidad de promover que las células tumorales adquieran fenotipos más agresivos [10, 11].

## Efecto Warburg

En los años 20, Otto Heinrich Warburg junto con su grupo de trabajo afirmaron que las células tumorales morían ante la falta de glucosa y oxígeno. Además, la glucosa que utilizaban era fermentada para producir piruvato que convertían en lactato en lugar de Acetil-CoA, incluso en condiciones aeróbicas (**figura 4**).

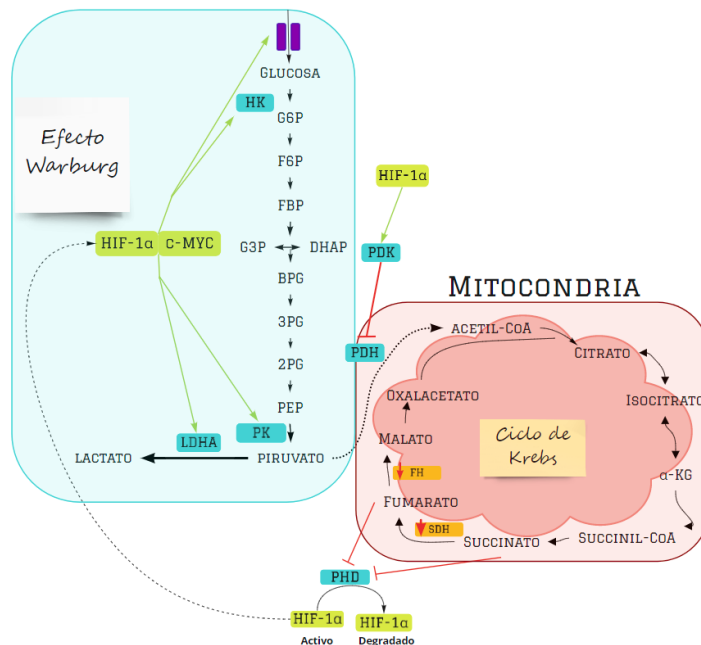
Como resultado, en lugar de obtener 38 ATP mediante glucólisis aeróbica y fosforilación oxidativa llevada a cabo en las mitocondrias, obtienen tan solo 2 ATP. Ante la baja producción de ATP, las células tumorales lo compensan consumiendo grandes cantidades de glucosa en comparación con las células normales [18, 19]. Este descubrimiento fue nombrado como “efecto Warburg” y hoy en día está jugando un papel muy importante frente a nuevas terapias contra el cáncer.



**Figura 4.-** Esquema de la glucólisis llevada a cabo en las células normales y en las células tumorales, en presencia y ausencia de oxígeno.

Se han propuesto diferentes mecanismos en torno al efecto Warburg para poder llegar a darle una explicación. El efecto Warburg se interpreta como resultado a una adaptación para sustentar las necesidades biosintéticas y metabólicas de las células tumorales ante un crecimiento exacerbado de las mismas. La elevada demanda de glucosa permite obtener elevadas cantidades de metabolitos intermedios que las células tumorales utilizan para su crecimiento y proliferación [18, 20].

Otro mecanismo por el que tendría lugar el efecto Warburg en las células tumorales, sería el relacionado con la regeneración del NAD<sup>+</sup> a partir de NADH obteniéndolo en la transformación del piruvato en lactato. De esta forma se mantendría una glucólisis continuada ya que el NADH formado en las primeras etapas sería consumido posteriormente. Sin embargo, por este balance NAD<sup>+</sup>/NADH no tendría lugar el crecimiento y aumento de la masa de las células que ocurre con el efecto Warburg. Es por ello que cada vez tiene más relevancia el papel que juegan las mitocondrias. Gracias a las reacciones que tienen lugar, se produce la biosíntesis de lípidos, ácidos nucleicos y aminoácidos [18]. Sin embargo, todavía no se ha encontrado una propuesta concluyente respecto del efecto Warburg.



**Figura 5:** Esquema de la glucólisis anaeróbica o “efecto Warburg” y las enzimas implicadas.

### Efecto Warburg en células tumorales

Recientes estudios han concluido que las células tumorales reprograman su metabolismo en función de las condiciones del ambiente, ya sea por falta de oxígeno, modificaciones en el pH, aumento de especies reactivas de oxígeno (ROS), etc. Estas adaptaciones al entorno permiten el rápido crecimiento, migración, invasión y la resistencia frente a la apoptosis de las células [21].

Cuando una célula tumoral lleva a cabo una glucólisis anaeróbica o efecto Warburg, se observan diferentes cambios en las mitocondrias (**figura 5**). Estos cambios principalmente reorientan el proceso metabólico ya que el piruvato en lugar de ser usado en una producción eficiente de ATP a través de la fosforilación oxidativa es empleado para obtener intermediarios del ciclo de Krebs. Es por ello que el consumo de glucosa se desvía de una función estrictamente energética a una función energética y anabólica [19, 22].

Para reordenar el proceso metabólico, intervienen diferentes enzimas y factores como son c-MYC, HIF-1, PGC-1 $\alpha$ , AKT... entre otros, contribuyendo a un desplazamiento del piruvato a lactato en lugar de Acetil-CoA, aunque una parte continúa hacia el ciclo de Krebs para obtener intermediarios. En relación a las enzimas mitocondriales, la succinato deshidrogenasa (SDH) y la fumarasa (FH) pierden su actividad lo que conlleva a una acumulación de intermediarios que inhiben a la PHD (prolil-hidroxilasa HIF) la cual se encarga de la degradación de HIF-1 [23, 24]. Esta es una adaptación metabólica de las células tumorales, que junto con otras, aparecen durante su transformación y proliferación del mismo modo que ocurre con la sobre expresión de Pol  $\theta$ , lo que hace pensar que pudiera haber algún tipo de relación entre ambas.

### Efecto Warburg en células normales

Los niveles de expresión de Pol  $\theta$  parecen ser más elevados en la mayoría de las células tumorales y sorprendentemente en tejidos no tumorales como son en los testículos [12, 25-28], el tejido placentario humano [12, 25, 27, 29] y en las células hematopoyéticas [25, 27]. En relación con el efecto Warburg y las células hematopoyéticas, en neutrófilos, como eosinófilos y basófilos por ser metabólicamente similares, se ha observado que requieren de la glucosa para obtener ATP a través de la glucólisis anaeróbica de igual manera que ocurre en las células tumorales, y de la ruta de las pentosas fosfato para obtener NADPH. También se ha observado este metabolismo en macrófagos con polaridad M1 y en células dendríticas activadas, mientras que en macrófagos con polaridad M2 utilizan solo la oxidación de los ácidos grasos para obtener ATP [30, 31].

También se ha observado que en linfocitos T efectores (activos) predomina la glucólisis anaeróbica, aunque también está activa la fosforilación oxidativa en menor proporción, mientras que en células T memoria y T reguladoras predomina la oxidación de los ácidos grasos y la fosforilación oxidativa. Este cambio en el metabolismo de los linfocitos está ligado al proceso de la respuesta inmune ya que en aquellos linfocitos que requieren aumentar su crecimiento y proliferación (como ocurre con los linfocitos T naïve al activarse a T efectores), predomina la glucólisis anaeróbica. Tras concluir la respuesta inmune, los linfocitos T efectores resultantes modifican su metabolismo a un estado basal pasando a ser linfocitos T memoria con un predominio de la fosforilación oxidativa [31].

En relación a los linfocitos B, estos también pasan de ser células basales a células activadas con actividades metabólicas más exigentes como es la formación de antígenos y la expansión clonal. Cuando los linfocitos B se van diferenciando, se ha observado que van variando su metabolismo, aunque cuando son activados a través de los BCR (receptor de los linfocitos B) o inmunoglobulinas de superficie, se observa que aunque se incrementa la glucólisis anaeróbica, la fosforilación oxidativa también lo hace estableciéndose un equilibrio entre ambas, sin predominio de ninguna de ellas [32].

Esta diferencia metabólica entre las células hematopoyéticas y las células de otros tejidos, junto con que son de las pocas células normales que expresan Pol  $\theta$ , vuelve a sugerir cierta conexión entre ambos procesos.

### Recombinación V(D)J y ADN polimerasa $\theta$

La recombinación V(D)J es un proceso llevado en los linfocitos T y B por el cual se generan al azar diferentes combinaciones de segmentos (V, D y J) que codifican para diversas proteínas. Este proceso tiene lugar para formar los receptores de los linfocitos T (TCR) y las inmunoglobulinas (Ig) de los linfocitos B. Durante la diferenciación de los linfocitos T y B, se produce la recombinación somática entre los segmentos V(D)J, elegidos y cortados al azar por las recombinasas RAG1/2. Posteriormente, tiene lugar la reparación por la c-NHEJ y, en último término, la desoxinucleotidil transferasa terminal (TdT) une ambos segmentos añadiendo nucleótidos al azar. Tanto el proceso de recombinación V(D)J como la hipermutación somática (proceso llevado a cabo para cambiar la región variable de las Ig y mejorar la afinidad) ocurre en los linfocitos para aumentar la variabilidad de los TCR y las Ig gracias a los cortes aleatorios de las recombinasas y a las mutaciones incluidas durante el proceso de reparación del ADN [33]. Para aumentar aún más las mutaciones y por ello, la variabilidad, las ADN polimerasas intervienen durante la hipermutación somática. Se ha observado que la ADN polimerasa  $\eta$  intercambia nucleótidos A/T, pero también se ha observado que la ADN polimerasa  $\theta$  puede intercambiar nucleótidos C/G [34]. Como resultado, los linfocitos estarían obteniendo una variabilidad superior. El aumento de expresión de Pol  $\theta$  observado en linfocitos donde tiene lugar la recombinación somática (linfocitos T y B) e hipermutación somática (linfocitos B), además de presentar una glucólisis anaeróbica o efecto Warburg

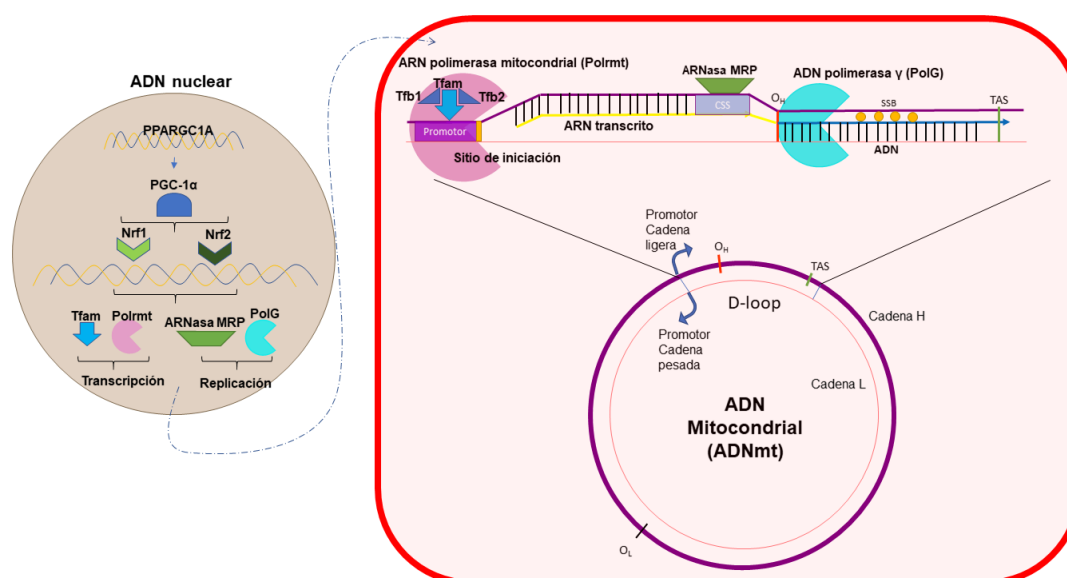
en sus etapas activas o efectoras, sugiere que pudiera existir una relación entre el efecto Warburg y la expresión de Pol  $\theta$ , y que esta misma relación también existiera en las células tumorales.

## Mitocondria

Las mitocondrias son los orgánulos implicados en diferentes actividades metabólicas. En ellas se lleva a cabo el ciclo de Krebs, la oxidación de ácidos grasos y la fosforilación oxidativa. Además, las mitocondrias regulan los mecanismos de muerte celular programada y la senescencia [35].

Para llevar a cabo los diferentes procesos mitocondriales de la replicación, transcripción y reparación del ADNmt (ADN mitocondrial), es necesaria una cooperación tanto de genes mitocondriales como de genes nucleares (**figura 6**). Cuando se activan los genes que codifican para los factores respiratorios nucleares 1 y 2 (Nrf1 y Nrf2), estos activan a su vez la transcripción de numerosos genes, como son la proteína reguladora de la transcripción mitocondrial A (Tfam) (proteína de unión a la secuencia diana del ADNmt), la ARN polimerasa (Polrmt), la ARNasa MRP, la ADN polimerasa  $\gamma$  (PolG) o los factores mitocondriales B1 y B2 (Tfb1 y Tfb2) [21, 36, 37].

El ADN mitocondrial o ADNmt está formado por una doble cadena de ADN no unido a histonas. En humanos, el ADNmt presenta una longitud de 16,5 kb y contiene 37 genes: 22 codifican para ARNs de transferencia (ARNt), 2 para ARNs ribosómicos (ARNr) y 13 codifican polipéptidos que forman parte de los complejos multienzimáticos que conforman la cadena transportadora de electrones mitocondrial: 7 forman el complejo I, 1 forma el complejo III, 3 el complejo IV y 2 el complejo V (ATPasa) [38, 39].



**Figura 6.-** Esquema de la cooperación existente entre el ADN nuclear y el ADN mitocondrial.

Las especies reactivas de oxígeno o también llamados ROS (Reactive Oxygen Species) son subproductos metabólicos generados como resultado del transporte de electrones durante la fosforilación oxidativa y la reducción del  $O_2$ . Entre estas especies reactivas destaca el anión superóxido, el radical hidroxilo, el oxígeno singlete y sobre todo el peróxido de hidrógeno. Para poder mantener los niveles de ROS bajos, existen diversos sistemas antioxidantes entre los que destaca la enzima SOD2 (superóxido dismutasa), y los sistemas Trx2/TrxR2/Prx3 (Tioredoxina/Tioredoxina reductasa/Peroxiredoxina) y GSH/GPx (Glutatión/Glutatión peroxidasa), ya que cuando los niveles de ROS son elevados son tóxicos para la célula pudiendo inducir daño en el ADN [40, 41].

El ADNmt presenta una alta tasa de replicación, una mayor exposición a ROS y una reparación menos eficiente respecto al ADN nuclear. Es por tanto que el ADNmt presenta una tasa de mutación más elevada que el ADN nuclear [17, 37]. La información genética del ADNmt es más densa debido a la ausencia de componentes como intrones en comparación con el ADN nuclear aumentando la probabilidad de dañar el ADNmt en una región codificante [17].

La ADN polimerasa  $\gamma$  durante mucho tiempo ha sido considerada la única enzima encargada de la síntesis, reparación y replicación del ADNmt. Diversos estudios han cuestionado esta hipótesis [42, 43] ya que han observado que las mitocondrias aunque no admiten la reparación por c-NHEJ, sí tiene lugar la reparación alt-NHEJ, donde participa Pol  $\theta$  en condiciones de estrés oxidativo [42]. Las adaptaciones metabólicas de las células tumorales están relacionadas con la actividad de las mitocondrias y éstas parecen usar Pol  $\theta$  para la reparación del ADNmt en condiciones de estrés como puede ser el desarrollo tumoral, representando otro nexo de unión entre el efecto Warburg y la expresión de Pol  $\theta$ .



## HIF-1

Una de las características de las células cancerígenas es su elevada tasa de crecimiento. Como consecuencia de ello, las células cancerígenas inducen angiogénesis ya que, una vez instaurado el tumor, este requiere nutrientes y oxígeno para poder seguir creciendo. Por tanto, las células más alejadas de los vasos se encuentran en un ambiente hipóxico y con pH bajo, presentando una menor tasa de proliferación. Estas células promueven la activación de oncogenes, entre ellos c-MYC, Ras y AMPK, PI3K, AKT y HIF-1, y suprimen p53 [19, 44].

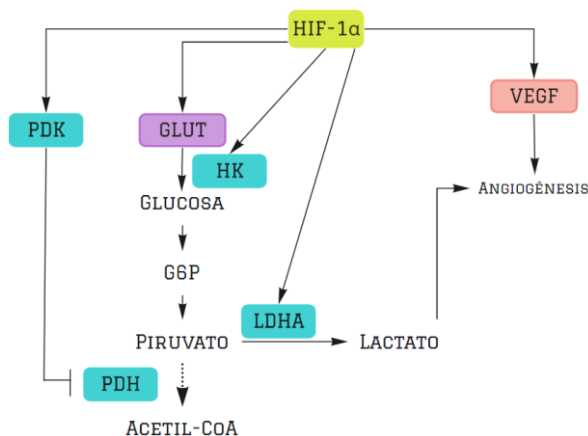


Figura 7.- Mecanismos de actuación de HIF-1

Ante la falta de oxígeno, se transcribe el factor HIF-1 (factor inducible por hipoxia 1), un heterodímero formado por una subunidad  $\beta$  (activa constitutivamente en el núcleo) y una subunidad  $\alpha$ . El HIF-1 regula la expresión de genes relacionados con la angiogénesis (VEGF), transportadores de glucosa como *GLUT1* y enzimas glucolíticas, provocando un aumento en la tasa de captación de glucosa y por tanto un aumento en la glucólisis (figura 7) [24, 45, 46]. Por otro lado, HIF-1 modula enzimas clave involucradas en el efecto Warburg. La activación de HIF-1 y c-MYC incrementan la actividad de la enzima PDK1 (piruvato deshidrogenasa quinasa) que inhibe a la PDH (piruvato deshidrogenasa) encargada de transformar el piruvato a Acetil-CoA, por lo que impide que el piruvato entre en el ciclo de Krebs y, además, activa la LDHA (lactato deshidrogenasa) que favorece la formación del piruvato a lactato [24, 46, 47]. Esta actividad reguladora del efecto Warburg o la regulación transcripcional que lleva a cabo, podrían estar relacionadas también con la regulación transcripcional de la expresión de Pol  $\theta$  en ciertos contextos como podría ser desarrollo tumoral.

## Relación entre efecto Warburg, PGC-1 $\alpha$ , ROS y reparación del ADN

El coactivador 1 $\alpha$  del receptor activado gamma del proliferador de peroxisoma o PGC-1 $\alpha$  es una proteína codificada en el gen *PPARGC1A* [36]. El PGC-1 $\alpha$  es un regulador de la biogénesis mitocondrial ya que dirige la maquinaria transcripcional, involucrado además en la detoxificación de ROS y en la respiración celular [36, 48, 49].

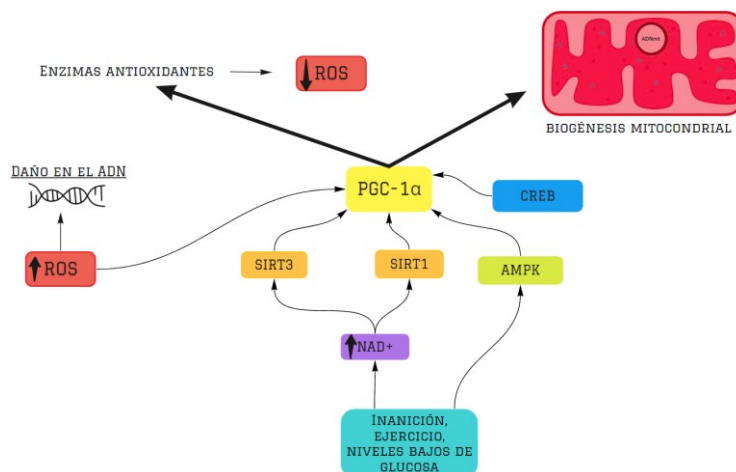


Figura 8.- Reguladores de la actividad de PGC-1 $\alpha$ .

La disfunción mitocondrial o efecto Warburg provoca un aumento en los niveles de ROS los cuales pueden dañar el ADN (figura 8). Cuando se elevan los niveles de ROS, estos inducen la expresión de

PGC-1 $\alpha$  y como resultado, el PGC-1 $\alpha$  induce la expresión de diferentes enzimas antioxidantes para que los niveles de ROS disminuyan, aunque el daño producido en el ADN debe ser reparado [21].

El PGC-1 $\alpha$  también se encarga de la coordinación que debe haber entre el ADN nuclear y el ADN mitocondrial para llevar a cabo las funciones mitocondriales. La actividad de PGC-1 $\alpha$  se encuentra regulada por niveles elevados de ROS, un bucle autorregulatorio, y por modificaciones post-traduccionales (fosforilaciones, metilaciones, acetilaciones...). Diversos factores como la falta de glucosa, el ayuno o el ejercicio físico inducen la activación de AMPK que fosforila a PGC-1 $\alpha$  directamente, así como un aumento en los niveles de NAD<sup>+</sup>. Los niveles elevados de NAD<sup>+</sup> potencian la actividad de las desacetilasas dependientes de NAD<sup>+</sup>, Sirtuina 1 y 3 (SIRT1 y SIRT3) [36, 49]. SIRT1 desacetila PGC-1 $\alpha$  y por tanto lo activa, mientras que la activación de SIRT3 es necesaria para activar las enzimas detoxificantes de ROS dependientes de PGC-1 $\alpha$  y para la biogénesis mitocondrial. Además, existe una retroalimentación entre SIRT3 y PGC-1 $\alpha$ , ya que es necesario que esté activo PGC-1 $\alpha$  para que al unirse al receptor ERR- $\alpha$  (receptor  $\alpha$  relacionado con el estrógeno) induzca la transcripción de SIRT3, como de SIRT3 para activar a PGC-1 $\alpha$  [49]. Además, existen otros factores que activan PGC-1 $\alpha$  (como sucede con CREB), mientras que otros disminuyen su actividad, como ocurre a través de ERK, NF $\kappa$ B o Smad3 entre otros [36].

En relación con los ROS, se conoce que inducen la biogénesis mitocondrial a través de la regulación de diferentes coactivadores, como ocurre con PGC-1 $\alpha$  a través de SIRT1 o SIRT3 [36, 49-51]. Por tanto, la disfunción mitocondrial tiene como resultado el aumento de ROS y de la biogénesis de mitocondrias, lo que compensaría el menor rendimiento de estos orgánulos. Otra consecuencia del aumento en la producción de ROS es el daño oxidativo que producen en las moléculas biológicas, siendo el más perjudicial el que se produce en el ADN. De nuevo, representando una posible conexión entre la disfunción mitocondrial y la expresión de Pol  $\theta$  que se encargaría de reparar el daño producido por los ROS en el ADN.

## Conclusiones

Cuando tiene lugar el efecto Warburg aumentan los niveles de ROS, lo que provoca la activación de PGC-1 $\alpha$  para disminuir dichos niveles. PGC-1 $\alpha$  se dirige al núcleo y promueve la expresión de los genes que regula, entre los que destacan aquellos que participan en la biogénesis mitocondrial [36, 48]. Además, existe relación con la reparación del ADN ya que, al ser dañado por el exceso de ROS, este debe de ser reparado y esta reparación es en parte gracias a Pol  $\theta$ . Otra relación observada es la que hay entre las células tumorales y los linfocitos, ya que ambos presentan efecto Warburg, un aumento en la expresión de Pol  $\theta$  y un aumento en la tasa de mutación que beneficia a las células tumorales con una mayor capacidad de supervivencia y evolución del tumor, y a los linfocitos como una mayor variabilidad en la formación de inmunoglobulinas y receptores.

La hipótesis que se propone se basaría en que el aumento de expresión de Pol  $\theta$  observado en células tumorales podría estar mediado por los cambios metabólicos o efecto Warburg, otorgándoles una mayor capacidad de supervivencia a pesar de tener una tasa de mutación mayor, que a su vez puede ser interpretado como una ventaja para la evolución del tumor.

## Perspectiva de futuro

Para poder contrastar las diferentes ideas recogidas en el estudio teórico, se propone la realización de diversos experimentos como la inhibición de la cadena respiratoria con diferentes drogas o mediante el silenciamiento de una proteína de la cadena respiratoria cuyo gen esté codificado en el ADN nuclear, de manera que se produjera un aumento en los ROS, y comprobar si condujera al aumento en la expresión de Pol  $\theta$ . Del mismo modo se usarían drogas para inhibir la fosforilación oxidativa y potenciar el efecto Warburg, o inhibir la glucólisis y obtener el efecto contrario. Por otra parte, se silenciaría la expresión de PGC-1 y HIF-1 para analizar si los niveles de Pol  $\theta$  disminuirían. Además, se contemplaría la posibilidad de llevar a cabo cultivos celulares en medios específicos (ej.: con deficiencia de aminoácidos...) así como en cámaras de hipoxia para observar el comportamiento metabólico de las células y si de nuevo condujera al aumento en la expresión de Pol  $\theta$ . Por otra parte, también se analizaría si estas modificaciones tuvieran efecto en la biogénesis de las mitocondrias, midiendo posibles aumentos del ADN<sub>m</sub> o de componentes específicos de las mitocondrias, como la cardiolipina, que es un lípido de la membrana, o la proteína citrato sintasa.

## Agradecimientos

Me gustaría dedicar este apartado a agradecer primeramente a mi tutor Pedro por todo el tiempo dedicado para sacar adelante este trabajo, por preocuparse durante toda la cuarentena y estar siempre disponible cuando le he necesitado. Agradecer también a mi familia el apoyo y comprensión que han tenido conmigo, a mis amigos y a mi pareja. Con algo bueno que me quedo de la COVID-19 dentro de todo lo malo, es lo unidos que nos ha dejado como familia.



## Referencias

1. O'Connor, M.J. 2015. Targeting the DNA Damage Response in Cancer. *Mol Cell*. 60(4):547-60.
2. Roos, W.P., Thomas, A.D. and Kaina, B. 2016. DNA damage and the balance between survival and death in cancer biology. *Nat Rev Cancer*. 16(1):20-33.
3. Mateos-Gomez, P.A., Kent, T., Deng, S.K., et al. 2017. The helicase domain of Poltheta counteracts RPA to promote alt-NHEJ. *Nat Struct Mol Biol*. 24(12):1116-23.
4. Chatterjee, N. and Walker, G.C. 2017. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. *Environ Mol Mutagen*. 58(5):235-63.
5. Ceccaldi, R., Rondinelli, B. and D'Andrea, A.D. 2016. Repair Pathway Choices and Consequences at the Double-Strand Break. *Trends Cell Biol*. 26(1):52-64.
6. Wood, R.D. and Doubleie, S. 2016. DNA polymerase theta (POLQ), double-strand break repair, and cancer. *DNA Repair (Amst)*. 44:22-32.
7. Mladenov, E., Magin, S., Soni, A., et al. 2016. DNA double-strand-break repair in higher eukaryotes and its role in genomic instability and cancer: Cell cycle and proliferation-dependent regulation. *Semin Cancer Biol*. 37-38:51-64.
8. Feng, W., Simpson, D.A., Carvajal-Garcia, J., et al. 2019. Genetic determinants of cellular addiction to DNA polymerase theta. *Nat Commun*. 10(1):4286.
9. Yoon, J.H., Johnson, R.E., Prakash, L., et al. 2020. Genetic evidence for reconfiguration of DNA polymerase theta active site for error-free translesion synthesis in human cells. *J Biol Chem*. 295(18):5918-27.
10. Mateos-Gomez, P.A., Gong, F., Nair, N., et al. 2015. Mammalian polymerase theta promotes alternative NHEJ and suppresses recombination. *Nature*. 518(7538):254-7.
11. Kent, T., Mateos-Gomez, P.A., Sfeir, A., et al. 2016. Polymerase theta is a robust terminal transferase that oscillates between three different mechanisms during end-joining. *Elife*. 5:e13740.
12. Kawamura, K., Bahar, R., Seimiya, M., et al. 2004. DNA polymerase theta is preferentially expressed in lymphoid tissues and upregulated in human cancers. *Int J Cancer*. 109(1):9-16.
13. Wyatt, David W., Feng, W., Conlin, Michael P., et al. 2016. Essential Roles for Polymerase  $\theta$ -Mediated End Joining in the Repair of Chromosome Breaks. *Molecular Cell*. 63(4):662-73.
14. Brambati, A., Barry, R.M. and Sfeir, A. 2020. DNA polymerase theta (Poltheta) - an error-prone polymerase necessary for genome stability. *Curr Opin Genet Dev*. 60:119-26.
15. Wisnovsky, S., Sack, T., Pagliarini, D.J., et al. 2018. DNA Polymerase theta Increases Mutational Rates in Mitochondrial DNA. *ACS Chem Biol*. 13(4):900-8.
16. Lemece, F., Bergoglio, V., Fernandez-Vidal, A., et al. 2010. DNA polymerase theta up-regulation is associated with poor survival in breast cancer, perturbs DNA replication, and promotes genetic instability. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 107(30):13390-5.
17. Zhang, L., Reyes, A. and Wang, X. 2017. The Role of DNA Repair in Maintaining Mitochondrial DNA Stability. *Adv Exp Med Biol*. 1038:85-105.
18. Liberti, M.V. and Locasale, J.W. 2016. The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? *Trends Biochem Sci*. 41(3):211-8.
19. Lebelo, M.T., Joubert, A.M. and Visagie, M.H. 2019. Warburg effect and its role in tumourigenesis. *Arch Pharm Res*. 42(10):833-47.
20. Devic, S. 2016. Warburg Effect - a Consequence or the Cause of Carcinogenesis? *J Cancer*. 7(7):817-22.
21. Bost, F. and Kaminski, L. 2019. The metabolic modulator PGC-1alpha in cancer. *Am J Cancer Res*. 9(2):198-211.
22. Lu, J. 2019. The Warburg metabolism fuels tumor metastasis. *Cancer Metastasis Rev*. 38(1-2):157-64.
23. Pezzuto, A. and Carico, E. 2018. Role of HIF-1 in Cancer Progression: Novel Insights. A Review. *Curr Mol Med*. 18(6):343-51.
24. Lv, X., Li, J., Zhang, C., et al. 2017. The role of hypoxia-inducible factors in tumor angiogenesis and cell metabolism. *Genes Dis*. 4(1):19-24.

25. Seki, M., Marini, F. and Wood, R.D. 2003. POLQ (Pol theta), a DNA polymerase and DNA-dependent ATPase in human cells. *Nucleic Acids Res.* 31(21):6117-26.
26. Shima, N., Munroe, R.J. and Schimenti, J.C. 2004. The mouse genomic instability mutation chaos1 is an allele of Polq that exhibits genetic interaction with Atm. *Mol Cell Biol.* 24(23):10381-9.
27. Yousefzadeh, M.J. and Wood, R.D. 2013. DNA polymerase POLQ and cellular defense against DNA damage. *DNA Repair (Amst).* 12(1):1-9.
28. Oliveira, P.F., Martins, A.D., Moreira, A.C., et al. 2015. The Warburg effect revisited--lesson from the Sertoli cell. *Med Res Rev.* 35(1):126-51.
29. Zhu, Y., Liu, Q., Liao, M., et al. 2019. Overexpression of lncRNA EPB41L4A-AS1 Induces Metabolic Reprogramming in Trophoblast Cells and Placenta Tissue of Miscarriage. *Molecular Therapy - Nucleic Acids.* 18:518-32.
30. Pearce, E.L., Poffenberger, M.C., Chang, C.H., et al. 2013. Fueling immunity: insights into metabolism and lymphocyte function. *Science.* 342(6155):1242454.
31. Pearce, E.L. and Pearce, E.J. 2013. Metabolic pathways in immune cell activation and quiescence. *Immunity.* 38(4):633-43.
32. Donnelly, R.P. and Finlay, D.K. 2015. Glucose, glycolysis and lymphocyte responses. *Mol Immunol.* 68(2 Pt C):513-9.
33. Abbas, A.K., Pillai, S. and Lichtman, A.H. 2018. Desarrollo del linfocito y reordenamiento del gen del receptor para el antígeno. In: Abbas A.K., Pillai S., Lichtman A.H., editors. *Inmunología celular y molecular.* 9 ed. Barcelona: Elsevier España; 179-207
34. Masuda, K., Ouchida, R., Takeuchi, A., et al. 2005. DNA polymerase  $\theta$  contributes to the generation of C/G mutations during somatic hypermutation of Ig genes. *102(39):13986-91.*
35. Herrera-González, N.E., Martínez-García, F. and Mejía-Jiménez, E. 2015. El efecto Warburg: la mano derecha en el desarrollo del cáncer. *20(2):171-7.*
36. Fontecha-Barriuso, M., Martin-Sanchez, D., Martinez-Moreno, J.M., et al. 2020. The Role of PGC-1alpha and Mitochondrial Biogenesis in Kidney Diseases. *Biomolecules.* 10(2):347.
37. Sharma, P. and Sampath, H. 2019. Mitochondrial DNA Integrity: Role in Health and Disease. *Cells.* 8(2):100.
38. Schopf, B., Weissensteiner, H., Schafer, G., et al. 2020. OXPHOS remodeling in high-grade prostate cancer involves mtDNA mutations and increased succinate oxidation. *Nat Commun.* 11(1):1487.
39. Sun, X. and St John, J.C. 2016. The role of the mtDNA set point in differentiation, development and tumorigenesis. *Biochem J.* 473(19):2955-71.
40. Idelchik, M., Begley, U., Begley, T.J., et al. 2017. Mitochondrial ROS control of cancer. *Semin Cancer Biol.* 47:57-66.
41. Vyas, S., Zaganjor, E. and Haigis, M.C. 2016. Mitochondria and Cancer. *Cell.* 166(3):555-66.
42. García-Lepe, U.O. and Bermúdez-Cruz, R.M. Mitochondrial Genome Maintenance: Damage and Repair Pathways. In: Mognato M., editor. *DNA Repair- An Update: IntechOpen; 2019.*
43. Tadi, S.K., Sebastian, R., Dahal, S., et al. 2016. Microhomology-mediated end joining is the principal mediator of double-strand break repair during mitochondrial DNA lesions. *Mol Biol Cell.* 27(2):223-35.
44. Hanahan, D. and Weinberg, R.A. 2011. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 144(5):646-74.
45. Pezzuto, A. and Carico, E. 2019. Role of HIF-1 in Cancer Progression: Novel Insights. A Review. *Current Molecular Medicine.* 18(6):343-51.
46. Courtney, R., Ngo, D.C., Malik, N., et al. 2015. Cancer metabolism and the Warburg effect: the role of HIF-1 and PI3K. *Mol Biol Rep.* 42(4):841-51.
47. Vaupel, P., Schmidberger, H. and Mayer, A. 2019. The Warburg effect: essential part of metabolic reprogramming and central contributor to cancer progression. *Int J Radiat Biol.* 95(7):912-9.
48. Rius-Perez, S., Torres-Cuevas, I., Millan, I., et al. 2020. PGC-1alpha, Inflammation, and Oxidative Stress: An Integrative View in Metabolism. *Oxid Med Cell Longev.* 2020:1452696.

49. Lloret, A. and Beal, M.F. 2019. PGC-1alpha, Sirtuins and PARPs in Huntington's Disease and Other Neurodegenerative Conditions: NAD<sup>+</sup> to Rule Them All. *Neurochem Res.* 44(10):2423-34.
50. Quan, Y., Xin, Y., Tian, G., et al. 2020. Mitochondrial ROS-Modulated mtDNA: A Potential Target for Cardiac Aging. *Oxid Med Cell Longev.* 2020:9423593.
51. Thirupathi, A. and de Souza, C.T. 2017. Multi-regulatory network of ROS: the interconnection of ROS, PGC-1 alpha, and AMPK-SIRT1 during exercise. *J Physiol Biochem.* 73(4):487-94.